

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-274961

(43)Date of publication of application : 24.10.1995

(51)Int.Cl.

C12N 9/80
//(C12N 9/80
C12R 1:01)

(21)Application number : 06-070725

(71)Applicant : TOYOBO CO LTD

(22)Date of filing : 08.04.1994

(72)Inventor : HATTORI SHIZUO
KISHIMOTO TAKAHIDE
TEJIMA SHINICHI
KAWAMURA YOSHIHISA

(54) PRODUCTION OF CREATINE AMIDINOHYDROLASE

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a creatine amidinohydrolase useful as a clinical examination agent for the determination of creatinine and creatine by culturing a creatine amidinohydrolase-producing microorganism belonging to the genus *Paracoccus* or *Sphingobacterium*.

CONSTITUTION: This creatine amidinohydrolase is produced by culturing a creatine amidinohydrolase-producing microorganism belonging to the genus *Paracoccus* or *Sphingobacterium*, preferably *Paracoccus denitrificans* UNGS AND *var. amabushfungus* *Paracoccus alkalophilus* JCM7364, *Sphingobacterium multivorum* TE3580, etc., in a nutrient medium and separating the produced enzyme from the cultured product.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 30.03.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

partial translation (JP Publication No. 07-274961)

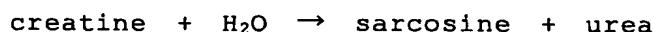
page 5, right column, lines 8-37

The obtained creatine amidinohydrolase showed the following properties.

1. Following reactions were catalyzed.

[0020]

[chemical 1]



[0021] 2. Km value: The Km value for creatine was about 22.8 mM.

3. Optimal pH: The enzymatic activity in 50 mM K-phosphate buffer (pH 6.0-8.0), 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0-9.0), and glycine-NaOH buffer (pH 9.0-10.5) was measured. The results are as shown in Fig. 1. The optimal pH was about 8.0-9.5.

4. pH stability: The residual activity was measured after storage in glycine-HCl buffer (pH 2-3), acetate buffer (pH 3-6), K-phosphate buffer (pH 6-8), Tris-HCl buffer (pH 8-9), or glycine-NaOH buffer (pH 9-10) at 25°C for about 18 hr.

5. Optimal temperature: The enzymatic activity was measured at each temperature. The results are as shown in Fig. 3. The optimal temperature was about 35-40 °C.

6. Heat stability: The enzyme of the present invention was warmed in 50 mM K-phosphate buffer (pH 7.5) for 30 min and the residual enzymatic activity was measured. The results are as shown in Fig. 4. The enzyme was stable up to about 40°C.

7. Molecular weight: about 68,000 (gel filtration method)

about 50,000 (SDS-PAGE)

8. Isoelectric point: about 4.1 (isoelectric focusing)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-274961

(43) 公開日 平成7年(1995)10月24日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	片内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 9/80	Z			
// (C 1 2 N 9/80				
C 1 2 R 1:01)				

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願平6-70725	(71) 出願人	000003160 東洋紡績株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目2番8号
(22) 出願日	平成6年(1994)4月8日	(72) 発明者	服部 静夫 福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所内
		(72) 発明者	岸本 高英 福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所内
		(72) 発明者	手嶋 真一 福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クレアチンアミジノハイドロラーゼの製造法

(57) 【要約】

【目的】 新規な菌株からクレアチンアミジノハイドロラーゼを製造する。

【構成】 バラコッカス・デナイトリフィンカンス (Paracoccus denitrificans)、バラコッカス・アルカロフィラス (Paracoccus alkalophilus) またはスフィンゴバクテリウム・マルチボラム (Sphingobacterium multivorum) に属する菌株を培養して、クレアチンアミジノハイドロラーゼを採取する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 バラコッカス属またはスフィンゴバクテリウム属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを生産する能力を有する微生物を栄養培地に培養し、培養物中にクレアチンアミジノヒドロラーゼを生成蓄積せしめ、該培養物から該酵素を採取することを特徴とするクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法。

【請求項2】 バラコッカス属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを生産する能力を有する微生物が、
 バラコッカス・デナイトリフィカンス (Paracoccus denitrificans) またはバラコッカス・アルカロフィラス (Paracoccus alkalophilus) であることを特徴とする請求項1記載のクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法。

【請求項3】 バラコッカス属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを生産する能力を有する微生物が、
 バラコッカス・デナイトリフィカンス (Paracoccus denitrificans) IFO14907 またはバラコッカス・アルカロフィラス (Paracoccus alkalophilus) JCM7364であることを特徴とする請求項1記載のクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法。

【請求項4】 スフィンゴバクテリウム属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを生産する能力を有する微生物が、スフィンゴバクテリウム・マルチボラム (Sphingobacterium multivorum) であることを特徴とする請求項1記載のクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法。

【請求項5】 スフィンゴバクテリウム属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを生産する能力を有する微生物が、スフィンゴバクテリウム・マルチボラム (Sphingobacterium multivorum) TE3580 (FERM P-14209) であることを特徴とする請求項1記載のクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法に関する。

【0002】 クレアチニンおよびクレアチンは血液または尿に見いだされ、その量を迅速かつ正確に検出測定することは疾病、例えば尿毒症、慢性腎炎、急性腎炎、巨人症、強直性筋栄養症等を診断するのに非常に重要である。このような診断を行うために、血液または尿中のクレアチニンおよびクレアチンを定量することが一般的に行われている。

【0003】

【従来の技術】 従来からクレアチンの定量法としては、試料中のクレアチンにクレアチンアミジノヒドロラーゼ、ザルコシンオキシダーゼを作用させ、生成する過酸化水素を過酸化水素検出手段により測定して、試料中のクレアチンを定量する方法があり、またクレアチニンの

定量法としては、試料中のクレアチニンにクレアチンアミドヒドロラーゼを作用させ、生成するクレアチンにクレアチンアミジノヒドロラーゼ、ザルコシンオキシダーゼを作用させて、試料中のクレアチニンを定量する方法がある。

【0004】 一方、これらの定量法に使用するクレアチンアミドヒドロラーゼ、クレアチンアミジノヒドロラーゼ、ザルコシンオキシダーゼは微生物界に広く見いだされており、特にクレアチンアミジノヒドロラーゼは、シュードモナス属、アースロバクター属、フラババクテリウム属、マイクロコッカス属、アルカリゲネス属、ベニシリウム属、アシネトバクター属、コリネバクテリウム属、アクチノバチルス属、バチルス属細菌から得られることが報告されており、その中の幾つかは既に工業的に製造され、臨床検査薬として使用されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは上記細菌の他の菌株から、新しくクレアチンアミジノヒドロラーゼを製造することを試みた。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは種々検討した結果、新たにバラコッカス属またはスフィンゴバクテリウム属に属する菌株がクレアチンアミジノヒドロラーゼを生産することを見出し本発明に到達した。

【0007】 すなわち本発明はバラコッカス属またはスフィンゴバクテリウム属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを生産する能力を有する微生物を栄養培地に培養し、培養物中にクレアチンアミジノヒドロラーゼを生成蓄積せしめ、該培養物から該酵素を採取することを特徴とするクレアチンアミジノヒドロラーゼの製造法である。

【0008】 本発明に使用する微生物としては、バラコッカス属またはスフィンゴバクテリウム属に属し、クレアチンアミジノヒドロラーゼを産生する能力を有するものであれば、いずれの菌株を用いても良い。バラコッカス属に属する菌株としては、好ましくはバラコッカス・デナイトリフィカンス (Paracoccus denitrificans)、バラコッカス・アルカロフィラス (Paracoccus alkalophilus) などが挙げられる。スフィンゴバクテリウム属に属する菌株としては、スフィンゴバクテリウム・マルチボラム (Sphingobacterium multivorum) などが挙げられる。

【0009】 更に好ましくはバラコッカス・デナイトリフィカンス (Paracoccus denitrificans) IFO14907、バラコッカス・アルカロフィラス (Paracoccus alkalophilus) JCM7364、スフィンゴバクテリウム・マルチボラム (Sphingobacterium multivorum) TE3580 などが挙げられる。なお、スフィンゴバクテリウム・マルチボラム (Sphingobacterium multivorum) TE3580 は、京都市左京区深泥池の土壌から分

離した菌株であり、その菌学的性質は以下の通りである。

【0010】(a) 形態

(1) 菌形：かん菌

(2) 細胞の大きさ：0.5×1.5～2.5 μm

(3) 細胞の多形性：無し

(4) 運動性：無し

(5) 胞子の有無：無し

(b) 各培地における生育状態

(1) 肉汁寒天平板培地：30℃、48時間培養でロウ 10
色のコロニーを形成する。コロニーの周縁は全縁(Entire)であり、クッション状(Pulvinate)である。表面は円滑(smooth)で光沢を有し、不透明である。

(2) 肉汁液体培養：生育は普通で一様に混濁する。

(3) 肉汁ゼラチン穿刺培養：生育は普通で上部のみ糸状(Filiform)に生育する。ゼラチンは液化しない。

(4) リトマスミルク：色に変化はない。ミルクは固化しない。

(5) マッコンキー寒天培地：生育しない。

(6) フェニルエチルアルコール寒天培地：生育しない。 20

【0011】(c) 生理学的性質

(1) グラム染色性： - (陰性)

(2) 色素の生成：黄土色の色素を生成する。

(3) 硝酸塩の還元： -

(4) 脱窒反応： -

(5) MRテスト： -

(6) VPテスト： -

(7) インドールの生成： -

(8) 硫化水素の生成： - 30

(9) デンブンの加水分解： -

(10) Tween 80の分解： -

(11) クエン酸の利用：Koserの培地 -、Christensenの培地 -

(12) 無機窒素源の利用：

硝酸ナトリウム +

硫酸アンモニウム +

グルタミン酸ナトリウム +

(13) ウレアーゼ： +

(14) オキシダーゼ： +

(15) カタラーゼ： +

(16) β-ガラクトシダーゼ： +

(17) アルギニンジヒドラーゼ： -

(18) リジンカルボキシラーゼ： -

(19) オルニチンカルボキシラーゼ： -

(20) トリプトファンデアミナーゼ： +

(21) β-グルコシダーゼ： +

(22) プロテアーゼ： -

(23) DNase： +

(24) 生育の範囲：

生育温度 20℃ +

30℃ +

37℃ -

40℃ -

50℃ -

生育pH pH4 -

pH7 +

pH9 +

(25) 酸素に対する態度：好気性

(26) O-Fテスト(Hugh Leifson法)：O(酸化)

(27) 糖から酸およびガスの生成

	酸	ガス
L-アラビノース	+	-
D-キシロース	+	-
D-グルコース	+	-
D-マンノース	+	-
D-フラクトース	+	-
D-ガラクトース	+	-
マルトース	+	-
シュクロース	-	-
ラクトース	+	-
トレハロース	+	-
D-ソルビトール	-	-
D-マンニトール	-	-
イノシトール	-	-
グリセリン	-	-
デンプン	-	-
ラムノース	-	-
D-メリビオース	-	-
D-アミダクリン	-	-

(28) 有機化合物の利用

D-グルコース	+
L-アラビノース	+
D-マンノース	+
D-マンニトール	+
N-アセチル-D-グルコサミン	+
マルトース	+
グルコン酸カリウム	-
n-カブリン酸塩	-
アジピン酸	-
d1-リンゴ酸	-
クエン酸ナトリウム	-
酢酸フェニル	-

【0012】上記菌学的性質同定のための実験法は、主として長谷川武治編著、改訂版「微生物の分類と同定」学会出版センター（1985年）によって行った。また分類同定の基準として、「パージェーズ・マニュアル・オブ・システマチック・バクテリオロジー」（1984）およびインターナショナル・ジャーナル・オブ・システマチック・バクテリオロジー Vol. 33, 580（1983）を参考にした。以上の文献および菌学的性質を参考にするとグルコース非発酵性グラム陰性かん菌で黄土色の色素を生成すること、オキシダーゼ、カタラーゼ、β-グルコシダーゼ、β-ガラクトシダーゼ、ウレアーゼが陽性、各種糖類より酸を生成することより、本菌はスフィンゴバクテリウム（*Sphingobacterium*）属に属するとみなされる。またスフィンゴバクテリウム中ではデンプンを分解しないこと、マンニトールより酸を生成しないことを考えるとスフィンゴバクテリウム・マルチボラム（*Sphingobacterium multivorum*）に属すると

考えられ、スフィンゴバクテリウム・マルチボラム（*Sphingobacterium multivorum*）TE3580と命名した。本菌は受託番号、FERM P-14209として寄託されている。

【0013】本発明の酵素を製造するにあたっては、上記クレアチンアミジノヒドロラーゼ生産菌を栄養培地に培養し、該培養物からクレアチンアミジノヒドロラーゼを採取することにより製造できる。クレアチンアミジノヒドロラーゼ生産菌の培養にあたって使用する培地としては、使用菌株が資化しうる炭素源、窒素源、無機物、その他必要な栄養素を適量含有するものであれば、合成培地、天然培地いずれも使用できる。炭素源としては、例えばグルコース、グリセロール酸等が使用される。窒素源としては、例えばペプトン類、肉エキス、酵母エキス等の窒素含有天然物や、塩化アンモニウム、クエン酸アンモニウム等の無機窒素含有化合物が使用される。無機物としては、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、硫酸マグネシウム等が使用される。またクレアチンアミジノヒドロラーゼの生産誘導物質として、クレアチンを培地に添加しておくことが望ましい。

【0014】本発明では通常、振盪培養あるいは通気攪拌培養を行う。培養温度は約20～45℃、好ましくは約25～37℃、培養pHは約5～9の範囲で、好ましくは約6～8に制御するのが良い。これら以外の条件下でも使用する菌株が生育すれば実施できる。培養期間は通常、約1～7日で生育し、菌体内にクレアチンアミジノヒドロラーゼが生産蓄積される。

【0015】本発明の酵素の精製法は一般に使用される精製法を用いれば良い。例えば抽出法としては超音波破碎、ガラスビーズを用いる機械的な破碎、フレンチプレ

ス、界面活性剤などいずれを用いても良い。さらに抽出液については、硫酸やばう硝などの塩析法、塩化マグネシウムや塩化カルシウムなどの金属凝集法、プロタミンやポリエチレンイミンなどの凝集法、さらにはDEAE（ジエチルアミノエチル）セファロース、CM（カルボキシメチル）セファロースなどのイオン交換クロマト法などにより精製することができる。またこれらの方法で得られた粗酵素液や精製酵素液は、例えばスプレードライや凍結乾燥により粉末化できる。さらには適当な担体に固定化して固定化酵素として使用できる。

【0016】本発明の製造法により得られたクレアチンアミジノハイドロラーゼは、クレアチンに作用して、ザルコシンおよび尿素を生産する。このクレアチンアミジノハイドロラーゼは、ザルコシンオキシダーゼおよび過酸化水素検出組成物と組み合わせてクレアチンの測定に使用することができる。またクレアチンアミドハイドロラーゼを共存させて、クレアチニンを定量することができる。

【0017】次に本発明のクレアチンアミジノハイドロラーゼの活性測定法を示す。まず試験管に基質溶液（クレアチンを0.1Mとなるように50mMリン酸緩衝液、pH7.5に溶解したもの）0.9mlをとり、37℃で約5分予備加温する。次に酵素溶液0.1mlを加え、反応を開始し、37℃で正確に10分間反応させた後、DAB溶液（2.0gのジメチルアミノベンズアルデヒドを100mlのジメチルスルホキシドに溶解させた後、濃塩酸15mlを加える。）2.0mlを加えて反応を停止させる。25℃で20分間放置後、生成した尿素がジメチルアミノベンズアルデヒドと縮合して生成した黄色色素（Ehrlich反応生成物）を425nmにおける吸光度で測定する。盲検は基質溶液0.9mlを37℃で10分間放置後、DAB溶液2.0mlを加えて混和し、ついで酵素溶液0.1mlを加えて調製し、以下同様に25℃で20分間放置後、吸光度を測定する。上記条件下で1分間に1マイクロモルの黄色色素を生成する酵素量を1単位（U）とする。

【0018】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明を具体的に示す。

実施例1

クレアチン1%、ポリペプトン1%、酵母エキス0.5%、NaCl0.5%を含む培地（pH7.0）100mlを500ml容坂口フラスコに移し、121℃、15分間オートクレーブを行った。種菌として、バラコッカス・デナイトリフィカンス（*Paracoccus denitrificans*）IFO14907を一白金耳植菌し、30℃で時間培養し、種培養液とした。次に同培地6リットルを10リットル容ジャーファーマンターに移し、121℃で15分間オートクレーブを行い、放冷後、種培養液100mlを移し、300rpm、通気量2l/分、30℃で

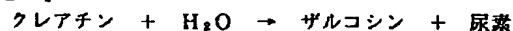
時間培養した。培養液を遠心分離にて集菌し、50mMリン酸緩衝液（pH7.0）に懸濁した。

【0019】上記菌体懸濁液をフレンチプレスで処理し、遠心分離を行い、上清液を得た。得られた粗酵素液を硫酸分画、DEAEセファロースクロマトグラフィー、フェニルセファロースクロマトグラフィー、セファデックスG-200によるゲルろ過により比活性、約18U/mgにまで精製した。得られたクレアチンアミジノハイドロラーゼは下記特性を有していた。

1. 下記の反応を触媒した。

【0020】

【化1】



【0021】2. Km値：クレアチンに対するKm値は約22.8mMであった。

3. 至適pH：50mM K-リン酸緩衝液（pH6.0～8.0）、50mMトリス塩酸緩衝液（pH8.0～9.0）、グリシンNaOH緩衝液（pH9.0～10.5）中での酵素活性を測定した。その結果は図1に示す通りであって、至適pHは約8.0～9.5であった。

4. 安定pH：グリシン塩酸緩衝液（pH2～3）、酢酸緩衝液（pH3～6）、K-リン酸緩衝液（pH6～8）、トリス塩酸緩衝液（pH8～9）、グリシンNaOH緩衝液（pH9～10）で25℃、約18時間保存してその残存活性を測定した。その結果は図2に示す通りであって、安定pHはpH約4～10であった。

5. 至適温度：各温度における酵素活性を測定した。その結果は図3に示す通りであって、至適温度は約35～40℃であった。

6. 熱安定性：本発明の酵素を50mM K-リン酸緩衝液（pH7.5）中で30分間保温した後、残存する酵素活性を測定した。その結果は図4に示す通りであって、約40℃まで安定であった。

7. 分子量：約68,000（ゲル濾過法）

約50,000（SDS-PAGE）

8. 等電点：約4.1（等電点電気泳動）

【0022】実施例2

クレアチン1%、ポリペプトン1%、酵母エキス0.5%、NaCl0.5%を含む培地（pH7.0）100mlを500ml容坂口フラスコに移し、121℃、15分間オートクレーブを行った。種菌として、バラコッカス・アルカロフィラス（*Paracoccus alkalophilus*）JCM7364を一白金耳植菌し、30℃で時間培養し、種培養液とした。次に同培地6リットルを10リットル容ジャーファーマンターに移し、121℃で15分間オートクレーブを行い、放冷後、種培養液100mlを移し、300rpm、通気量2l/分、30℃で時間培養した。培養液を遠心分離にて集菌し、50mMリン酸緩衝液（pH7.0）に懸濁し、フレンチプレスで処理

し、遠心分離を行い、上清液を得た。得られた粗酵素液は約0.3 U/mlのクレアチンアミジノヒドロラーゼを含有していた。

【0023】実施例3

クレアチン1%、ポリペプトン1%、酵母エキス0.5%、NaCl0.5%を含む培地(pH7.0)100 mlを500 ml容坂口フラスコに移し、121℃、15分間オートクレーブを行った。種菌として、スフィンゴモナス・マルチボラム(*Sphingobacterium multivoru*m)TE3580(FERM P-14209)を一白金耳植菌し、30℃で時間培養し、種培養液とした。次に同培地6リットルを10リットル容ジャーファーメンターに移し、121℃で15分間オートクレーブを行い、放冷後、種培養液100 mlを移し、300 rpm、通気量2 l/分、30℃で時間培養した。培養液を遠心分離にて集菌し、50 mMリン酸緩衝液(pH7.0)に懸濁した。

【0024】上記菌体懸濁液をフレンチプレスで処理し、遠心分離を行い、上清液を得た。得られた粗酵素液を硫酸分画、DEAE-セファロースクロマトグラフィー、フェニルセファロースクロマトグラフィー、セファデックスG-200によるゲルろ過により比活性約21 U/mgにまで精製した。得られたクレアチンアミジノヒドロラーゼは下記特性を有していた。

1. 下記の反応を触媒した。

【0025】

【化2】



2. Km値：クレアチンに対するKm値は約18.5 mMであった。

3. 至適pH：50 mM K-リン酸緩衝液(pH5.5~8.0)、50 mMトリス塩酸緩衝液(pH7.5~8.5)、グリシンNaOH緩衝液(pH9.0~10.5)中での酵素活性を測定した。その結果は第5図に示す通りであって、至適pHは約7.5~9.0であった。

4. 安定pH：グリシン塩酸緩衝液(pH2~3)、酢

酸緩衝液(pH3~6)、K-リン酸緩衝液(pH6~8)、トリス塩酸緩衝液(pH8~9)、グリシンNaOH緩衝液(pH9~10)で、25℃、18時間保存してその残存活性を測定した。その結果、安定pHは約4~10であった(図6)。

5. 至適温度：各温度における酵素活性を測定した。その結果は図7に示す通りであって、至適温度は約40℃であった。

6. 熱安定性：本発明の酵素を50 mM K-リン酸緩衝液(pH7.5)中で30分間保温した後、残存する酵素活性を測定した。その結果は図8に示す通りであって、45℃まで安定であった。

7. 分子量：約73,000(ゲル濾過法)

約44,000(SDS-PAGE)

【0026】

【発明の効果】本発明の製造法により、今まで未報告の菌株であるバラコッカス属またはスフィンゴバクテリウム属に属する菌株からクレアチンアミジノヒドロラーゼを得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】バラコッカス属の酵素の反応pHと相対活性との関係を示すグラフである。

【図2】バラコッカス属の酵素のpH安定性を示すグラフである。

【図3】バラコッカス属の酵素の反応温度と相対活性との関係を示すグラフである。

【図4】バラコッカス属の酵素の熱安定性を示すグラフである。

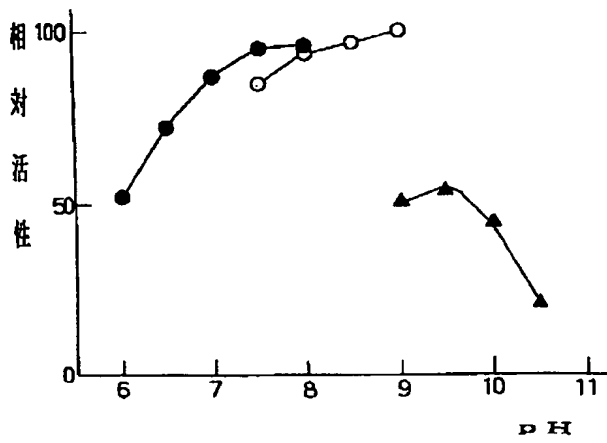
【図5】スフィンゴバクテリウム属の酵素の反応pHと相対活性との関係を示すグラフである。

【図6】スフィンゴバクテリウム属の酵素のpH安定性を示すグラフである。

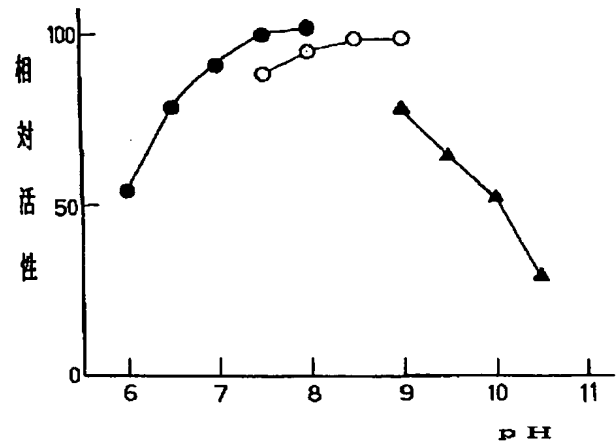
【図7】スフィンゴバクテリウム属の酵素の反応温度と相対活性との関係を示すグラフである。

【図8】スフィンゴバクテリウム属の酵素の熱安定性を示すグラフである。

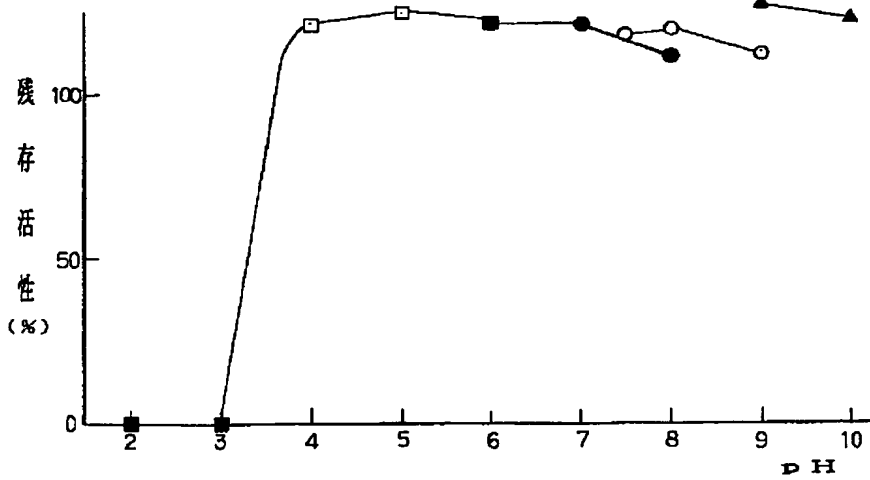
【図1】



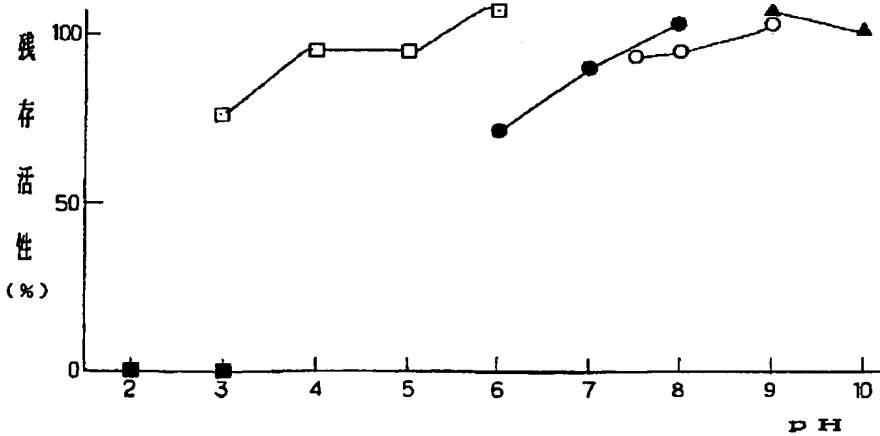
【図5】



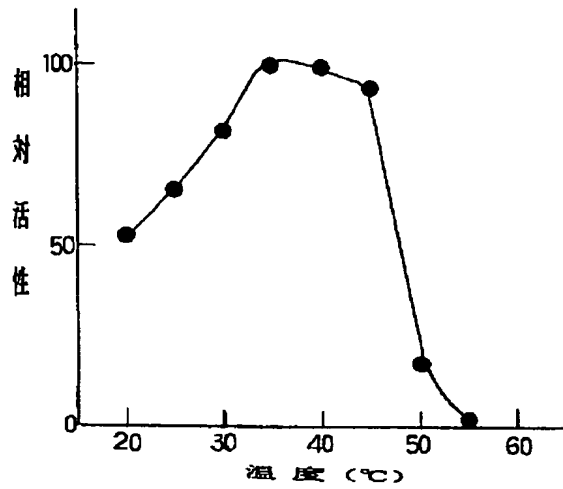
【図2】



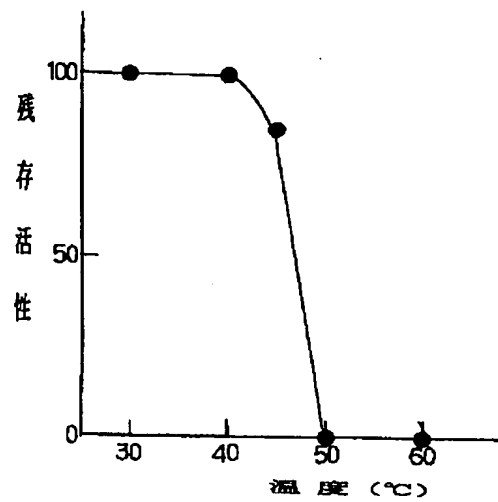
【図6】



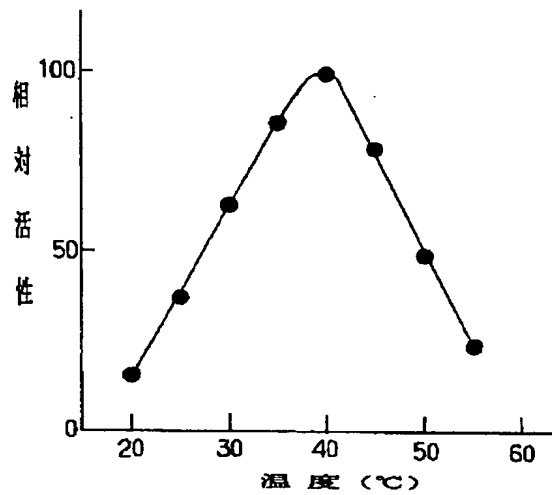
【図3】



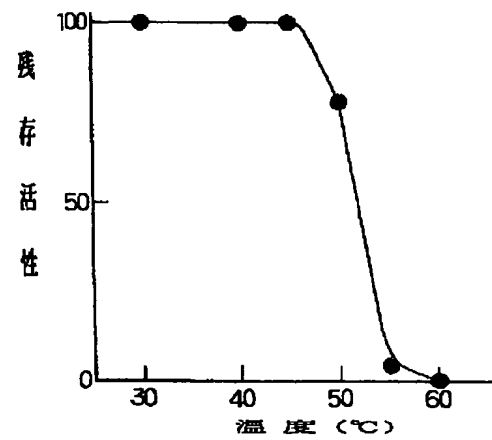
【図4】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(72)発明者 川村 良久
 福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株
 式会社敦賀バイオ研究所内